

Beiträge zur Biologie des Influenzabacillus.

Inaugural - Dissertation

der

medizinischen Fakultät zu Königsberg i. Pr.

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

vorgelegt von

Arthur Luerssen,

Arzt.

Promotion: Dienstag den 31. März, 12 Uhr.

Königsberg i. Pr.

Buch- und Steindruckerei von Otto Kümmel

1903.

Gedruckt mit Genehmigung der
medizinischen Fakultät der Königl. Albertus-Universität
zu Königsberg i. Pr.

Referent: Professor Dr. R. Pfeiffer.

1892 und 1893 veröffentlichte R. Pfeiffer seine Arbeiten über den bis dahin vergebens gesuchten Erreger der Grippe, den später *Bacillus influenzae* R. Pfeiffer genannten Schizophyten (siehe Litteraturverzeichnis No. 27—29). Er hatte schon 1890 in Influenzasputumpräparaten Kirchners (s. Litteraturverz. No. 21) kleine, kurze, schwerfärbbare Stäbchen gefunden, die er für dringend verdächtig hielt und die er auch während der Influenzaepidemie von 1891 fast in Reinkultur in den Eiterballen der Influenzasputa mikroskopisch nachweisen konnte. Er erklärte diese Stäbchen als Erreger der Grippe und hatte nun durch Reinzüchtung den Beweis zu führen, dass sie eine besondere Art vorstellten, und dann ihre Eigenschaft, die Influenza zu erregen, auch durch Impfung festzustellen.

Die Züchtung machte aber grosse Schwierigkeiten: weder in Bouillon oder auf Gelatine noch auf Agar, weder aërob noch anaërob wollte der *Bacillus* wachsen. Erst als Pfeiffer den Sputumeiter direkt auf Agar ausstrich, zeigten sich kleine, wasserhelle Kolonien, die aus den gesuchten Stäbchen bestanden. Wider Erwarten war aber eine Ueberimpfung von diesen Kolonien auf gewöhnliche Nährböden wieder ohne Erfolg, auch Versuche mit Zucker- oder Glycerinzusatz, mit frischem und erstarrtem Blutserum von Mensch und Tier, Milch,

Serumagargemischen nach Löffler, schliesslich Nährböden von schwach saurer bis stark alkalischer Reaktion wollten nicht glücken.

Ein so sonderbares Verhalten konnte nur dadurch erklärt werden, dass das auf den Nährboden übertragene Sputum Stoffe enthielt, die zum Wachstum des Influenzabacillus notwendig waren. Diese Annahme wurde noch dadurch unterstützt, dass auch in der ersten Generation kein Wachstum erfolgte, wenn der Sputumeiter durch Verteilen in Bouillon, Gelatine oder Agar stark verdünnt oder wenn er, auf Agar gestrichen, nach Kitasatos Methode mit sterilem Wasser ausgewaschen worden war.

Nach vielen erfolglosen Versuchen fand Pfeiffer, dass das Blut der Wachstum begünstigende Stoff sei. Es gelang ihm, die Influenzabacillen auf Agar, das mit sterilem Menschen- oder Tierblut bestrichen war, weiterzuzüchten, — am besten eignete sich Taubenblut dazu.

Pfeiffer suchte nun experimentell zu ermitteln, welcher Grundstoff des Blutes diesen fördernden Einfluss ausübte. Hierbei zeigte es sich nun, dass klares Serum von Blut ohne Zellbeimischung kein Wachstum, schwach durch rote Blutkörperchen getrübbes üppiges Wachstum ermöglichte, was natürlich die Aufmerksamkeit auf die Blutkörperchen lenkte. Von Serum und Fibrin befreite Erythrocyten gaben, auf Agar gestrichen, in der Tat üppiges Wachstum des Influenzabacillus. Es lag nun nahe, weiter das Haemoglobin der Blutkörperchen für die das Wachstum ermöglichende Substanz zu halten,

was sich auch durch Züchtung auf Agar mit reinem Haemoglobin bestätigte.

Hiermit ist auch das einmal erfolgende, ein ander Mal wieder ausbleibende Wachstum des *Bacillus influenzae* auf Sputumeiter erklärt, da er ja immer etwas Haemoglobin enthält und dieses leicht ausgewaschen wird.

Die Annahme, dass das Haemoglobin als Sauerstoffträger wirke, widerlegte Pfeiffer durch Züchtung des Influenzabacillus auf Kohlenoxydhaemoglobin.

Da gekochtes Haemoglobin ein, wenn auch kümmerliches, Wachstum zuließ, so vermutete Pfeiffer, dass der Influenzabacillus nach Analogie anderer Mikroorganismen Eisensalze zum Fortkommen brauche, Versuche mit künstlichem Eisenalbuminat waren aber ohne Erfolg.

Die hauptsächlich durch die Pfeiffer'schen Versuche festgestellten Lebensbedingungen des Influenzabacillus auf künstlichen Nährböden waren nun folgende: Der Influenzabacillus wächst obligatorisch aerob, ohne Dauerformen zu bilden, auf den gewöhnlichen leicht alkalischen Nährböden mit Zusatz von Blut oder Haemoglobin bei einem Temperaturoptimum von 37°. Die Kolonien sind schon nach eintägigem Verweilen der Kultur im Brutschrank als stecknadelkopfgrosse Taupfropfen sichtbar und können bis achtzehn Tage lebensfähig bleiben, sind aber sehr empfindlich gegen Austrocknung. Um sicher zu gehen, muss man sie daher alle vier bis fünf Tage überimpfen.

Da hiernach der Influenzabacillus eine Ausnahmestellung beansprucht und seine Züchtung sehr umständ-

lich und schwierig ist, so ist es natürlich, dass die mit Influenza beschäftigten Forscher nach anderen und einfacheren Methoden suchten. Obwohl sich nun verhältnismässig wenige fanden, die dies versuchten, und daher die Zahl der einschlägigen Angaben gering ist, so haben sich dabei doch unverhältnismässig viele Widersprüche ergeben, die teilweise noch nicht aufgeklärt sind und wohl auch nicht mehr leicht aufzuklären sein werden, da man etwaige Irrtümer nicht mehr nachweisen kann. Dass Irrtümer, z. B. Verwechselung mit influenzaähnlichen Bakterien, vorgekommen sind, ist mehrfach nachgewiesen worden, wie im Folgenden zu ersehen ist, — ausserdem ist es ja auch bei unserer mangelhaften Kenntnis der Bakterienflora ganz natürlich, kennen wir doch von wirklich influenzaähnlichen Bacillen nur fünf, den Pseudo-influenzabacillus Pfeiffers (Litteraturverz. No. 28), den Spengler'schen und den Jochmann-Krause'schen Keuchhustenbacillus, den Bacillus haemoglobinophilus canis E. Friedbergers (Litteraturverz. No. 13) und den influenzaähnlichen Bacillus A. Wolffs (Litteraturverz. No. 37), obwohl man annehmen kann, dass es bedeutend mehr Arten giebt.

Die verschiedenen Untersuchungen über die Zucht des Influenzabacillus sind folgende:

Canestrini (Litteraturverz. No. 3) giebt an, aus dem Blut eines Influenzakranken Bacillen gezüchtet zu haben, die fast mit den Pfeiffer'schen Bacillen übereinstimmten, aber auch anaërob gut wuchsen.

Bruschettini wollte Influenzabacillen gezüchtet haben und zwar auf gewöhnlichen Nährböden, erfolgreicher allerdings mit Blutzusatz (Litteraturverz. No. 2),

Pfeiffer und Beck konnten jedoch nachweisen, dass die von ihm gefundenen Bakterien mit dem Pfeiffer'schen Influenzabacillus nicht identisch waren (Litteraturverz. No. 30). Ausserdem impfte Bruschettini aus Blutkulturen über, sodass schliesslich auch Blut mit übertragen werden konnte.

Kitasato hatte angeblich Influenzabacillen auf Glycerinagar bis zur zehnten Generation gezüchtet (Litteraturverz. No. 20), Pfeiffer und Beck konnten aber bei nochmaligen Züchtungsversuchen auf Glycerinagar kein Wachstum erhalten, sodass die Identität des Kitasato'schen Mikroorganismus mit dem Influenzabacillus angezweifelt werden musste, — Kitasato hatte Streptococcen gezüchtet (Litteraturverz. No. 28, 29).

Canon, der Kitasato's Beobachtung bestätigt hatte (Litteraturverz. No. 4), erklärte später selbst, dass er wohl mit Influenza ähnlichen Bacillen gearbeitet habe (Litteraturverz. No. 5).

Letzèrich (Litteraturverz. No. 23 u. 24) wollte Influenzabacillenkulturen auf Kartoffeln mit Bronchialschleim gezüchtet haben, die jedoch bald von anderen Mikroorganismen überwuchert wurden, — später auch aus Blut, Urin und Bronchialschleim Influenzakranker Reinkulturen auf „Magnum bonum“- und „Gelben Johannis“-Kartoffeln. Er will an den Impfstellen glas- helle, zoogloeaähnliche, etwas über das Niveau hervorragende Massen gesehen haben, die die Influenzabacillen enthielten. Seine Angaben sind ungenau, sodass man nicht ersehen kann, ob er die Uebertragung von Blut, Bronchialschleim etc. vermieden und ob er nicht nur in

der ersten Generation Wachstum erhalten, sondern mehrfach von Kartoffel zu Kartoffel übergeimpft hat.

Cornil und Chantemesse geben an, den Influenzabacillus auf Zuckeragar und in Zuckergelatine gezüchtet zu haben (Litteraturverz. No. 10).

Pfuhl (Litteraturverz. No. 31. u. 32), bekam auf Glycerinagar und in Bouillon Wachstum, aber nur in der ersten Generation, auf Gelatine und Kartoffeln gar keins oder nur spärliches, sodass er zu der Ansicht kam, dass beim Ausstrich des Impfmateri als Stoffe mit übertragen seien, durch die erst das Wachstum ermöglicht würde.

Dasselbe nahm Weichselbaum an, der auf gewöhnlichem Agar nie, auf Glycerinagar nur in der ersten Generation ein paar mal spärliches Wachstum beobachtete (Litteraturverz. No. 36).

Huber (Litteraturverz. No. 18) bestätigte Pfeiffers Angaben. Er züchtete den Influenzabacillus auch auf Nährböden mit Zusatz von Hommels Haematogen, die Kulturen zeigten ein sehr langsames Wachstum, — oft waren sie erst nach 10 Tagen zu sehen, — dafür aber grössere Lebensdauer, bis zu 40 Tagen. Huber erhielt auch Stichkulturen, die sich bis zu 67 Tagen lebensfähig erwiesen.

Nasstiukoff (Litteraturverz. No. 26) erhielt Influenzabacillenwachstum auf Bouillon, Gelatine oder Agar, wenn Hühnereigelb oder eine Lösung davon zugesetzt wurde, und erklärt dies durch das Vorhandensein des dem Haemoglobin ähnlichen Haematogens im Eidotter.

Kruse, sowie Lindenthal und Kretz, bestätigten Pfeiffers Angaben. Kruse erhielt auf Eigelb kein Wachstum (Litteraturverz. No. 22).

Max Richter (Litteraturverz. No 33) bestätigte Pfeiffer ebenfalls, er erreichte spärliches Wachstum auf Hommels Haematogen, schwaches auf Agar, das mit sterilisirtem Sputum, steriler Galle, Tauben- und Hühnereigelb bestrichen war. Es gelang ihm auch die Züchtung auf Methaemoglobin, das aber noch Spuren von Oxyhaemoglobin enthielt. Haematinlösungen nach Cazeneuve und Nasstiukoffs Eiergelbagar, erwiesen sich als ungeeignet, ebenso Nährböden mit Zusatz von Ferratin (Schmiedeberg).

M. Borchardt (Litteraturverz. No. 1), erhielt bei seinen Versuchen Influenza nur auf Blutnährböden, er mischte das Blut mit flüssigem auf 50° abgekühltem Agar und goss davon Platten.

Voges konnte den Influenzabacillus auch nur auf bluthaltigen Nährböden züchten. Meist benutzte er bluthaltiges Serum vom Menschen (Litteraturverz. No. 35). Auf Nasstiukoffs Eigelbnährböden und innerhalb des Eis konnte er kein Wachstum beobachten.

Hitzig erklärt einen von ihm beobachteten positiven Züchtungserfolg auf Sputum in der ersten Generation durch ungenügendes Auswaschen des Eiters (Litteraturverz. No. 17).

Kamen (Litteraturverz. No. 19), konnte wie Pfeiffer den Influenzabacillus nur auf bluthaltigen Nährböden züchten, — Versuche mit blutfreien gaben negatives Resultat, — will jedoch im Gegensatz zu

Pfeiffer ein Gedeihen des Influenzabacillus in Wasserstoff- und Kohlensäureatmosphäre, auch in sauerstoffarmer Luft (Pyrogallusmethode) erhalten haben. Die Kulturen zeigten eine Lebensdauer von drei Wochen.

Grassberger (Litteraturverz. No. 7 u. 8), fand bei der Influenzabacillenzüchtung zu diagnostischen Zwecken zufällig, dass die isolirt stehenden Kolonien, die in Reinkultur schon grösser sind, verhältnismässig riesengross wurden, wenn sie in der Nähe von fremden Bakterienkolonien, die als Verunreinigung hinzugekommen waren, standen. Den Riesenwuchs beobachtete er auch, wenn er diese Verhältnisse künstlich nachahmte, indem er Agarplatten mit Blut-Influenzagemisch bestrich und durch einen seichten Stich in der Mitte den fremden Keim, Staphylococcen u. a., impfte. Er fand dabei das Riesenwachstum in verschiedenem Grade, je nach der Art des fremden Keims. Er beobachtete es auch, wenn er die Kulturen der fremden Mikroorganismen $\frac{1}{4}$ Stunde lang im Dampfkochtopf sterilisirte, umgoss und dann Influenza mit Blut gemischt auftrug. Aeltere Kulturen, z. B. 2 Tage alte Staphylococcenkultur gaben aber häufig schon kein Resultat mehr.

Versuche mit und ohne Mischkulturen auf Nährböden, denen Eisensalze und Gallenfarbstoffe zugesetzt waren, schlugen fehl, Mischkultur auf alkalischer 10/0iger Lösung von Hommels Haematogen und Haematin gelang.

Grassberger zog aus seinen Untersuchungen den Schluss, dass bei diesen Mischkulturen Substanzen aus den Bakterienleibern diffundiren, die die Assimilir-

barkeit des Haemoglobins für den Influenzabacillus steigern. Er untersuchte noch, ob der Grund der Wachstumsbegünstigung vielleicht in der erhöhten Alkaleszenz des Nährbodens läge, und fand dabei Folgendes: „In Influenzareinkulturen erreichen auch die isolirt stehenden Kolonien nur Dimensionen in den von Pfeiffer angegebenen Werten, besitzen ausserdem eine gewisse Empfindlichkeit gegen über- und unternormale Alkaleszenz des Nährbodens. In Staphylococcenmischkulturen erreichen sie ganz ungewöhnliche Dimensionen und zeigen sich im hohen Grade gegen weitgehende Alkaleszenzunterschiede tolerant.“

Meunier (Litteraturverz. No. 25), bestätigte Grassbergers Versuche.

Capaldi (Litteraturverz. No. 9) fand, dass der Influenzabacillus auf Eigelbagar spärlich, auf 2 mit Eierhaematogen hergestellten Röhrchen gar nicht wuchs.

A. Cantani jun. (Litteraturverz. No. 6—8) veröffentlichte überraschende Züchtungserfolge auf haemoglobinfreien Nährböden. Er züchtete den Influenzabacillus bis zur 30. Generation auf Sperma vom Rind. Das Sperma suchte er steril und blutfrei zu bekommen, „indem ich“ wie er schreibt „den isolirten Funiculus spermaticus zwischen zwei Fingern presste und das so herausgekommene Sperma mit einer sterilen Platinöse auffing.“ Er verwandte auch Hodensaft, den er mit steriler Oese von sterilen Schnittflächen abnahm, giebt aber zu, dass dabei dem Saft etwas Blut beigemischt wurde. Glycerinextrakte und alkalische Lösungen von gepresstem

Hodensaft, Hodenbouillon und käufliche Hodenextrakte zeigten kein Wachstum.

Cantani versuchte nun die Züchtung des Influenzabacillus auf Stoffen, die dem Blut und Sperma gemeinsam: Serumalbumin, Cholesterin, Lecithin und Nuclein. Die Versuche mit Lecithin und Nuclein fielen negativ aus. Das Wachstum auf Cholesterin und reinem Serumalbumin war gut, auf coagulirtem und flüssigem Eialbumin kümmerlich. — Auch auf Ascitesbouillon erhielt er Wachstum, seine diesbezüglichen Versuche wurden bestätigt durch Rosenthal (Litteraturverz. No. 34), und Elmassian (Litteraturverz. No. 12), der Ascites- und Serungelatine benutzte.

Spätere Versuche Cantanis mit Serum und Ascites ergaben gutes Wachstum auf Ascites und Blutserum, das nach Wertheims Methode der Peptonbouillon zugesetzt war, dagegen spärliches Wachstum auf reinem Menschenblutserum, nur manchmal erfolgendes auf Serum- und Ascitesagar, schliesslich kein Wachstum auf Ascites mit Nutrosezusatz nach Wassermann, eingedicktem Ascitesserum und coagulirtem Kuhserum.

Bei Versuchen mit Galle und deren Bestandteilen erhielt er kein Wachstum auf Meerschweinchen- und Kaninchengalle, kümmerliches Wachstum mit Bildung von Degenerationsformen auf abnormer Menschengalle, die „etwas zäher und dicker als normal, mucinhaltig, aber eiweissfrei“ war, gutes Gedeihen auf Cholesterin und Mucin aus Galle.

Positiven Erfolg hatte er ferner auf Protagon, Prot-, Dis- und Haemalbumose, Globulin aus Blut und Serum,

Serumalbumin, coagulirtem Eidotter und Eialbumin auf Agar, dagegen negativen Erfolg auf Agar mit Ei, das bei 100° sterilisirt war und auf Haematin. Ein goldgelber Digestionsextrakt aus Blut gab nur für wenige Tage Wachstum, dann versagte er.

Schliesslich machte C a n t a n i noch Versuche mit Mischkulturen (Litteraturverz. No. 7). Er fand dabei, dass gewisse Bacterien, lebend oder abgetödet, das Wachstum des Influenzabacillus auf Nährböden, auf denen er sonst nicht gut wächst, bedeutend steigern, einige sogar die Züchtung auf Agar ohne Zusatz ermöglichen. Beim Arbeiten mit lebender Mischkultur ging er so vor, dass er auf die mit Influenza geimpften Platten (Agar, Ascitesagar und Blutglycerinagar) in dünnem Kreuzstrich das fremde Bacterium impfte. Zu den Versuchen mit sterilisirten Mischkulturen schwemmte er die betreffenden Kulturen, meistens eine für jede Mischkultur, in steriler Kochsalzlösung auf und sterilisirte sie, indem er sie 3 Stunden hindurch auf 60° erhitzte. Dann vermischte er die Aufschwemmung mit flüssigem, abgekühltem Agar, goss Platten und impfte nach dem Erstarren in Kreuzform Influenza. Die beigefügte Tabelle giebt die Resultate bei einem Theil der Mikroorganismen, mit denen C a n t a n i arbeitete, den der Art nach näher bestimmten, an.

auf:	Influenza geimpft unter Zusatz			
	der lebenden Mikroorganismen			der bei 60° sterilis. Mikr.
	Nähragar	Ascitesagar	Blutglycerin- agar	Nähragar
Schwarze Hefe	0			++
Rosa Hefe	0			+++
Micrococc. roseus				+++
Megatherium				0
Prodigiosus				+++
Metschnikoff				+++
Finkler				+
Tuberculose	0	++	+	
Dipl. Fraenkel	0	0		0
Gonococcen	+++	+++++	+++++	+++++
Staphyl. alb.	0	++	+++	+++
„ aur.	0	++	+++	+++
Pyocyaneus	0		+++	
Cholera	0			++
Typhus	0		+	+++
Anthrax	0	+	+	0
Diphtherie	+++	++++	++++	++++
Pseudo-diphth.	0		++	+++
Coli	0		+	0

0 = kein Wachstum, + + + + + = üppigstes Wachstum.

Ausserdem fand C a n t a n i noch verschieden starkes Wachstum in verschiedenen Mischkulturen mit nicht näher bestimmten Bakterien aus der Luft, Sputis etc.

Sterilisation der Mikroorganismen bei 100° ergab lange nicht so gute Resultate. Die durch Mischkultur hergestellten Nährböden hielten sich nicht lange, nach 24 Stunden waren sie schon unbrauchbar.

Die Begünstigung des Influenzabacillenwachstums erklärt sich auch C a n t a n i durch Substanzen, die aus den Bakterienleibern diffundiren. Den Unterschied zwischen dem geringen Wachstum der Influenza bei Beimpfung des lebenden fremden Bacteriums und dem üppigen bei Verwendung abgetöteter fremder Kulturen erklärt er sich dadurch, dass die lebenden fremden Keime die Influenza überwuchern und durch ihre Vitalitätserscheinungen hemmend beeinflussen, in den Mischungen mit abgetöteten Mikroorganismen hingegen die Influenzabacillen besser mit den fremden in Berührung treten. — C a n t a n i nahm schliesslich an, dass wahrscheinlich das Albumin der Bakterienkörper jener Stoff sei, der das Wachstum begünstigt; Lecithin und Nuclein konnte er durch seine Versuche ausschliessen.

Während ich mit der Nachprüfung der C a n t a n i'schen Untersuchungen beschäftigt war, erschienen noch folgende zwei Arbeiten:

G h o n und v. P r e y s s (Litteraturverz. No. 14), konnten infolge ihrer Nachuntersuchungen Grassbergers Angaben bestätigen, sie erhielten aber bei der Nachprüfung der C a n t a n i'schen Arbeiten verschiedentlich von den seinen abweichende Resultate.

Bei der Züchtung des Influenzabacillus auf gewöhnlichem Agar unter Zusatz lebender oder abgetöteter Staphylococcen, Diphtheribakterien und Gonococcen erhielten sie kein Wachstum. Die positiven Resultate Cantanis mit Gonococcen erklären sie durch eine wahrscheinliche Uebertragung von Haemoglobin aus dem Serum auf dem die Gonococcen gezüchtet wurden.

Auch auf Sperma, das sie, nur wenig verunreinigt, „ab vivo per vias naturales“ gewannen, konnten sie nicht wie Cantani Wachstum des Influenzabacillus bemerken.

Auf eine Nachprüfung der sonstigen Versuche Cantanis mit blutfreien Nährböden, wie z. B. Serum, Ascites, Galle, verzichteten sie mit der Behauptung, dass die wirklich blutfreie Herstellung derselben technisch unmöglich sei und andererseits Influenza noch wachse, wo Haemoglobin auch spectroscopisch ohne Hydrazinzusatz nicht mehr nachzuweisen sei.

Bei der Anstellung eigener Versuche fanden sie, dass Wachstum des Influenzabacillus stattfand auf Agar mit haemoglobinhaltigen Haematinlösungen, die sie durch Kochen des Blutes mit Wasser, besser mit Normalsodalösung herstellten, und bezeichnen diesen Nährboden als den bisher besten.

Versuche mit Zusatz von Bilirubin, Taurochol-, Cholal- und Glycocholsäure und durch Verdauung gewonnenem Haematin („H₁“) zu Agar gaben negative Resultate.

Auf haemoglobinfreien Haematinböden wuchs Influenza nur unter Zusatz fremder, lebender oder abgetöteter Keime, aber üppiger als auf allen anderen Nährböden. Die Zucht des Influenzabacillus auf „H₁“-boden

in Mischkultur empfehlen die Autoren als sehr praktisch; da „H₁“ sehr haltbar, — über 2½ Jahre, — und sterilisierbar sei, ausserdem auf ihm Riesenwachstum erfolge. Ghon und v. Preyss nehmen an, dass dieses Wachstum der Influenza auf sonst ungeeignetem Boden durch Stoffe der fremden Bacterienleiber ermöglicht werde, die in die Umgebung diffundiren. Versuche mit Agar unter Zusatz von Stoffen des Bacterienleibes, wie Milchsäure und Glykogen, schlugen fehl. Näheres über die Natur des fraglichen Stoffes konnten sie nicht ermitteln.

Czaplewski (Litteraturverz. No. 11) stellte sich ähnlich wie Borchardt Blutagar dadurch her, dass er wenig steriles Blut mit verflüssigtem und auf 45—60° abgekühltem Nähragar vermengte, sodass es „kaum noch eben rötliche Farbe“ zeigte. Es gelang auch, wie er angiebt, seinem Assistenten, Dr. Auerbach, auf solcher Blutgelatine und Blutagar Influenza im Gelatinebrutschrank zu züchten, worüber aber noch nähere Angaben in Aussicht gestellt sind. Durch Anwendung des auf diese Weise gewonnenen Blutagars wird eine Ueberimpfung von Blut beim Abimpfen der Influenza ziemlich vermieden und die mikroskopische Untersuchung wegen des Fehlens hindernder Beimengungen erleichtert.

Die Widersprüche der einzelnen Beobachtungen und vor allem die überraschenden Erfolge Cantanis bedürfen der Nachprüfung und veranlassten meinen hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. R. Pfeiffer, mir diese aufzutragen. Ich werde im Folgenden über meine Untersuchungen berichten.

Ich arbeitete mit einer Influenzakultur, die von Czaplowski stammte. Ich züchtete sie stets mit gutem Erfolg auf Agar, das mit Blut von Tauben, Rind, Kaninchen oder Meerschweinchen beschickt war, d. h. entweder bestrichen oder vermischt, indem das Agar umgeschmolzen oder nach Czaplowskis Angaben zubereitet wurde. Ich benutzte aber auch, — ebenfalls mit gutem Erfolg, Gemenge von Nähragar mit Haemoglobin aus Rinder- und Kaninchenblut, das nach Pfeiffers Angaben hergestellt war. Nach meinen ersten Versuchen benutzte ich zum Ueberimpfen der Influenza auf blutfreie Nährböden nur solche Kulturen die auf Blutagargemischen gezüchtet waren, um so die Uebertragungsgefahr von Blut zu vermindern. Zur Ueberimpfung schabte ich 12—20 Kolonien mit steriler Oese ab, verrieb sie in etwa 1 ccm steriler Bouillon und impfte dann mit einer grossen Oese immer gleich viel über, und zwar auf Röhrchen und Platten, die ich bei 37° bebrüten liess. Die Influenzakulturen zeigten eine Lebensdauer bis zu 23 Tagen. Zur Controle impfte ich stets auch auf gewöhnliches Nähragar, wo nie etwas wuchs. Fand ich auf blutfreien Nährböden Influenzokolonien, so machte ich mikroskopische Präparate und impfte zur Controle auf Blutagar und gewöhnliches Agar über.

Die Angabe Czaplowskis, dass Influenza auf dem von ihm hergestellten Blut-Agar auch im Gelatinebrutschrank d. h. bei 22° wüchse, fand ich bestätigt. Die Influenzokolonien waren aber erst nach 2—3 Tagen deutlich sichtbar und entwickelten sich nicht so üppig wie sonst. Ob ich hierin von Czaplowski abweiche,

kann ich nicht sagen, da nähere Angaben fehlen, jedenfalls habe ich mich bemüht, den Forderungen Czaplewskis für die Beschaffenheit des Blutagars möglichst nachzukommen und die angegebene „kaum noch eben rötliche Farbe“ zu treffen. Bei 37° erhielt ich mit diesem Boden üppiges Wachstum, konnte aber keinen Unterschied von dem auf den gewöhnlichen Blutnährböden bemerken, fand jedoch, dass er sich wegen seiner bequemen Herstellungsweise, seiner Durchsichtigkeit und der Verminderung der Blutübertragungsgefahr sehr bewährte.

Da ich Haemalbumin zur Hand hatte, versuchte ich auch dieses. Ich löste es in physiologischer Kochsalzlösung, sterilisierte durch Aufkochen und strich es auf schrägerstarrtes Agar oder vermischte es mit Agar, wo es sich in Flocken verteilte. Der rotbraune Farbstoff durchsetzte das Agar gleichmässig, Influenza kam aber nicht darauf fort.

Um zu sehen, ob das Blut genug Nährstoffe enthielte, um für sich allein das Wachstum des Influenzabacillus zu ermöglichen, machte ich Versuche mit Blutagar, dessen Agar ohne Pepton- und Fleischwasserzusatz hergestellt war, das also nur aus Wasser, 4% Agar und 0,6% Kochsalz bestand. Ich fand aber, dass kein Wachstum erfolgte, weder bei kürzerer, noch bei längerer Bebrütung; auch nicht, wenn das Blut sehr dick aufgestrichen und das Haemoglobin so stark diffundiert war, dass der Boden schön rot aussah.

Da das Chlorophyll manche Analogie zum Blut bietet, so schien ein Versuch mit ihm aussichtsvoll und

ich wurde daher damit beauftragt, ihn auszuführen. Von einer chemisch reinen Herstellung nahm ich der Schwierigkeit und Umständlichkeit derselben und der Labilität der Chlorophylle halber Abstand, ich stellte mir nur einen einfachen Auszug aus Blättern her. Ich liess zerschnittene Blätter von *Syringa vulgaris* eine Nacht bei Zimmertemperatur in 2 % iger Sodalösung stehen und erhielt eine sauer reagierende, grünbraune, in dünner Schicht grüne Lösung, die ich durch Sodazusatz schwach alkalisch machte. Einen ähnlichen Extrakt erhielt ich auf gleiche Weise mit 70 % Alkohol. Diese Lösung befreite ich durch Abdampfen vom Alkohol und machte sie ebenfalls leicht alkalisch. Mit Agar gemischt oder nach Eindicken auf Agar gestrichen, wurden die Blattgrünlösungen auf gewöhnliche Weise mit Influenza geimpft, es erfolgte aber kein Wachstum. Auch Staphylococcen kamen darauf nur kümmerlich, oft garnicht fort, was wohl damit zu erklären ist, dass entwicklungshemmende Stoffe aus den Blättern in die Lösungen übergegangen waren.

Sodann ging ich an die Nachprüfung der Cantanischen Arbeiten.

Zu meinen Versuchen mit Hodensaft und Sperma liess ich mir Hoden und Samenleiter von frischgeschlachteten sprungfähigen Bullen im Zusammenhang mit der Harnblase herausschneiden und verarbeitete sie möglichst aseptisch. Zur Gewinnung des Hodensaftes verfuhr ich nach Cantanis Angaben, kam aber sofort zu der Ueberzeugung, dass auf diese Weise keine Blutfreiheit des Saftes erreicht werden konnte, was ja

Cantani auch zugiebt. Sofort nach Durchschneiden des Organs sickert das Blut sichtbar aus den Gefässen, und wenn man auch schnell eine makroskopisch blutfreie Spur entnimmt, so findet man doch unter dem Mikroskop so viele Erythrocyten, dass die Annahme naheliegt, es könnte das Blut der Wachstum fördernde Stoff des Hodensaftes sein. Von einem Auswaschen des Hodensafts wurde Abstand genommen, da ja auch andere Stoffe als das Blut ausgeschwemmt werden könnten. Ebenso wurde von einer aseptischen Durchspülung des Hodens mit physiologischer Kochsalzlösung von der Arteria spermatica interna aus abgesehen, da sie ja nicht vollständig geschehen kann, sich auch technisch wegen der Kleinheit der Arterie und der Grösse des Organs als unausführbar erwies. Das Wachstum des Influenza-bacillus auf Hodensaft war stets ein üppiges, meiner Ansicht nach ist aber die Kultur auf Blutnährböden für gewöhnlich als bequemer vorzuziehen.

Nun ging ich an die Nachuntersuchungen über die Züchtungen der Influenza auf Sperma, wobei ja von vornherein mehr Aussicht auf blutfreies Arbeiten bestand. Cantani gewann den zu seinen Versuchen benutzten Bullensamen durch Herauspressen aus dem durchtrennten Vas deferens und Abnehmen mit der Platinöse. Bei dieser Methode ist die Vermutung, dass etwas Blut beigemischt sein könnte, nicht leicht zurückzuweisen. Ich suchte daher bei meinen Controlversuchen eine Blutbeimengung folgendermassen zu vermeiden: Ich breitete den von Peritonealgewebe umkleideten Samenleiter, der mit Hoden und Harnblase zusammenhing, aus, suchte

mir die dünnste Stelle, etwa die Mitte, auf und spannte das Gefäss über die Finger der linken Hand, sodass ich annehmen konnte, dass es dadurch an der Druckstelle ziemlich anaemisch gemacht wurde. Dann riss ich mit sterilen Pincetten das Peritoneum und Bindegewebe auseinander, sodass das aseptische Vas deferens freilag. Jetzt machte ich mit sterilem Messer einen Querschnitt und führte in eins der etwas klaffenden Lumina die Spitze eines am unteren Ende zur Canüle ausgezogenen und oben mit Watte verschlossenen sterilen Reagenzgläschens ein. Dadurch wurde es ermöglicht, den Samen ohne Infection und Blutbeimengung aus dem Vas deferens in die Canüle und das Röhrchen zu pressen. In mikroskopischen Praeparaten konnte ich keine Erythrocyten finden. Auf diese Weise konnte ich aus jeder Hälfte des Samenleiters Sperma gewinnen, eine grössere Menge — bis 1 ccm — aber nur aus dem spindelförmig verdickten Ende hinter der Harnblase. Nach Entnahme des Spermas wurde die Canüle vorsichtig zugeschmolzen und das Material beliebig von der gewöhnlichen Oeffnung aus mit der Oese herausgenommen.

Ich strich das Sperma auf schräg erstarrtes Agar und zwar in verschiedener Menge; im Ganzen erhielt ich aus 6 Samenleitern einige Platten und 30 brauchbare Röhrchen, die ich teilweise mit Korken oder Gummikäppchen verschloss, um ein Betrocknen zu verhüten. Es erfolgte kein Wachstum der darauf geimpften Influenza im krassen Gegensatz zu den gleichzeitig verwandten Haemoglobin-, Blut- und Hodensaftnährböden, wo es stets üppig war.

Nur in einer Versuchsreihe fand ich in 2 Röhrchen je eine kleine Kolonie, die sich als Influenzokolonien erwiesen. Bei beiden war bei schwacher Vergrößerung ein kleiner brauner Punkt in der Mitte zu sehen, der sich bei stärkerer Vergrößerung und in gefärbten Präparaten als Taubenblut entpuppte, — ein gutes Beispiel dafür, dass Influenzabacillenwachstum auf Sperma nur bei Vorhandensein von Blut stattfindet. Ich musste annehmen, dass in diesem Falle ein Blutklümpchen mit übertragen und verrieben war, und züchtete seitdem die zur Ueberimpfung benutzte Influenza nur auf Blutagar-gemisch. Nach diesen meinen Arbeiten kann ich also Cantani nicht bestätigen, sondern muss Ghon und v. Preyß, deren Arbeit damals allerdings noch nicht erschienen war, zustimmen.

Um den Einfluss der Mischkultur mit lebenden Keimen auf das Wachstum des Influenzabacillus nachzu-prüfen, verfuhr ich wie Cantani, benutzte jedoch nur Nähragar. Als fremde Keime gebrauchte ich *Staphylococcus albus* und *aureus* und *Bacillus prodigiosus* aus der Sammlung des Hygienischen Instituts und *Bacillus diphtheritidis*, aus Diphtherieproben gezüchtet. Alle vier züchtete ich auf gewöhnlichem Nähragar bei 37°. Ich verrieb auf Platten reichlich Influenzaaufschwemmung in Bouillon und impfte dann das fremde Bacterium in einem dünnen Kreuzstrich. Controlkulturen der Influenza auf Agar und Blutagar wurden stets angelegt. Die Untersuchung erwies sich als sehr schwierig, da die versprengten, unentwickelten Kolonien der fremden Keime, z. B. auf zufällig dünnen Stellen der Platte, im Ganzen

denen des Influenzabacillus sehr ähneln. Ich bemerkte bei Mischkultur mit *Staphylococcus aureus* und *Diphtheriebacillus* nie ein Wachstum der mitgeimpften Influenza, obwohl die Fremdlinge üppig wucherten, — auch nicht bei wiederholter Bebrütung. Auf Platten mit *Staphylococcus albus* und *Bacillus prodigiosus* konnte ich nur einige Male am Rande der fremden Kultur wenige kümmerliche Influenzokolonien feststellen.

Auch bei meinen Versuchen über Mischkultur der Influenza mit abgetöteten Keimen habe ich nach C a n t a n i s Vorschriften gearbeitet, habe die Versuche aber später mehrfach modificiren müssen. Als fremde Keime nahm ich die schon zu den vorigen Versuchen benutzten und ausserdem noch *Vibrio Metschnikoff*, *Bacterium coli commune* und *Bacillus violaceus* aus der Sammlung des Hygienischen Instituts. Ich züchtete diese wie die übrigen Bakterien auf gewöhnlichem Nähragar, den *Violaceus* stets, den *Prodigiosus* teilweise bei 22°, die anderen bei 37°. Die Aufschwemmung der Bakterien, die ich zur Vermischung mit Agar brauchte, stellte ich zuerst so her, dass ich den Bakterienrasen vom Agar mit steriler Oese abschabte und in steriler Kochsalzlösung verrieb, gewöhnlich eine Kultur auf 1 ccm. Später goss ich, weil dies bequemer und ausgiebiger war, die Kochsalzlösung zur Kultur, wusch diese vom Agar herunter und goss die Aufschwemmung dann ab. Diese Aufschwemmung sterilisirte ich dann durch 3 stündiges Verweilenlassen im Thermostaten von 60°, die Sterilisation war jedoch nicht immer sicher. Die sterilisirte Aufschwemmung vermischte ich in Petrischalen mit verflüssigtem, auf 45—60° abgekühltem

Agar und impfte nach dem Erstarren Influenzaaufschwemmung kreuzförmig in breiten Strichen. Ausserdem wurden stets Controlkulturen auf Blutagar und gewöhnlichem Agar angelegt.

Mit *Staphylococcus aureus* und *albus* bekam ich in einer ersten Versuchsreihe kein Wachstum von Influenza, nach einer Pause von einem halben Jahre in einer zweiten Versuchsreihe aber deutliches, manchmal sogar kräftiges Wachstum. Auf Diphtherieagarmischung erhielt ich nie Influenzawachstum, — ich hatte hierbei zwei üppige Diphtheriekulturen zu jeder Platte verwandt. Mischkulturen von Agar mit sterilisirten Aufschwemmungen von *Prodigiosus*, *Violaceus*, *V. Metschnikoff* und *Coli* ergaben immer üppiges Wachstum des Influenzabacillus.

Die Verschiedenheit der Resultate von Cantanis, Ghons und v. Preys und meinen Versuchen in Bezug auf dieselbe Art möchte ich mir dadurch erklären, dass ja nicht mit absolut gleichem Material, z. B. mit *Staphylococccen* und *Coli*, gearbeitet wurde und dass die überaus feinen Vorgänge in den Bakterienkulturen durch geringfügige Unterschiede der Versuchsanordnung ohne unser Wissen und Willen wesentlich beeinflusst werden können.

Der Unterschied zwischen lebender und toter Mischkultur bringt mich wie Cantani dazu, anzunehmen, dass es nicht eine Lebenseigenschaft der fremden Bakterien ist, die das Influenzabacilluswachstum auf ungeeigneten Nährböden ermöglicht, sondern ein Stoff, der in die Umgebung diffundirt. Um nun die Bedingungen seiner etwaigen Bildung und Einwirkung näher zu ermitteln,

modificirte ich, indem ich hauptsächlich mit *Prodigiosus* arbeitete, die Mischkulturen folgendermassen:

Zunächst ging ich daran, zu untersuchen, ob die Art der Züchtung einen Einfluss habe, fand aber keinen wesentlichen Unterschied, ob ich nun den *Prodigiosus* bei 22° oder bei 37°, auf Agar, Kartoffel oder in Bouillon züchtete. Nur bei der Bouillonkultur des *Prodigiosus*, von der ich nach Sterilisation je etwa 1 ccm zur Agarplatte zusetzte, beobachtete ich, dass junge, einen Tag alte Kulturen im Gegensatz zu den älteren kein Influenzabacillenwachstum gaben. Das möchte ich damit erklären, dass der mit *Prodigiosus*bouillonkultur hergestellte Boden mit *Bacterienleibern* nicht so gesättigt war, wie die mit Aufschwemmungen zubereiteten, da sich der *Prodigiosus* in Bouillon langsamer und weniger üppig entwickelte als auf den festen Nährböden.

Das Alter der zur Sterilisation verwandten Kulturen kam auch nicht in Betracht: Aufschwemmungen von bis 10 Tage alten Kulturen ermöglichten ebenso üppiges Influenzawachstum wie frische. Auch die sterilisirte Aufschwemmung gab noch nach 16 Tagen dasselbe Resultat. Ich habe auch die Influenza von *Prodigiosus*boden zu *Prodigiosus*boden in 7 Generationen übergeimpft, ohne eine Veränderung der Kultur zu bemerken. Eine Aufschwemmung, die 20 Stunden bei 60° gestanden hatte, war ebenso brauchbar wie sonst. — Diese Eigenschaften der sterilisirten Mischkultur lassen sie als sehr praktisch zur Zucht erscheinen, man braucht z. B. nur *Prodigiosus*kultur von mehreren Tagen in Bouillon zu sterilisiren und bei

Bedarf eine Probe davon mit Agar zu mischen und dann zu impfen.

Wenn ich statt bei 60° bei 100° sterilisierte, was ich erreichte, wenn ich die Aufschwemmungen 1½ Min. in kochendes Wasser stellte, so erhielt ich für gewöhnlich kein Wachstum, nur einmal ganz spärliches. Ich erhielt auf diese Weise auch mit *Staphylococcus albus* und *aureus*, Diphtherie, *Violaceus* und *Metschnikoff* kein Wachstum, jedoch deutliches mit *Coli*.

Sterilisierte ich die ganze Kultur, indem ich sie umschmolz und wieder erstarren liess, was ich mit *Staphylococc. aureus* und *albus* und *Prodigiosus* that, so erhielt ich bei Influenzaimpfung nie Wachstum.

Ich nehme hiernach wie *Cantani* an, dass der das Influenzabacillenwachstum fördernde Stoff der fremden Keime durch starke Erhitzung für gewöhnlich ungünstig beeinflusst wird.

Ich suchte nun näher zu ergründen, ob der Stoff ein Ausscheidungsprodukt sei oder ein Bestandteil des Bacterienleibes. Dass er kein Stoffwechselprodukt sei, konnte man schon wegen der Verschiedenheit der Begünstigung bei lebender und abgetöteter Mischkultur vermuten, doch konnte es ja immerhin schon während des Lebens ausgeschieden und erst durch die Erhitzung auf 60° so weit verändert werden, dass es seine Wirkung entfalten konnte.

Durch den Geruch der *Prodigiosus*kolonien nach Trimethylamin wurde ich dazu bewogen, hiermit einen Versuch zu machen. Ich verdünnte ½ g einer Lösung, deren Concentration ich leider nicht kannte, mit 10 ccm

sterilen destillirten Wassers in sterilem Röhrchen und setzte hiervon je $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{2}$ oder 1 ccm ohne Weiteres oder nach Stehenlassen bei 60° während drei Stunden zu der verflüssigten und wieder abgekühlten Agarplatte und impfte nach dem Erstarren Influenza kreuzförmig, beobachtete aber nie Wachstum. — Der Nährboden war durch den Zusatz stärker alkalisch als sonst. (Staphylococcen und *Prodigiosus* wuchsen auf ihm üppig).

Um zu ermitteln, ob die *Bakterienleiber* den Wachstum fördernden Stoff enthielten, wusch ich sie ab, indem ich folgendermassen voring: Ich centrifugirte Aufschwemmungen von *Prodigiosus* in steriler Kochsalzlösung sowohl unsterilisirt als auch nach Sterilisation bei 60°, nahm die klare Kochsalzlösung ab, schwemmte den Bodensatz wieder auf, centrifugirte nochmals, goss wieder ab und verwandte nun den aus *Bakterienleibern* bestehenden Bodensatz zur Mischkultur, — den noch nicht sterilisirten nach Sterilisation bei 60°. Ich erhielt dabei das sonderbare Ergebnis, dass die *Bakterienleiber* kein Wachstum ermöglichten, wenn sie dem Agar aufgestrichen, dagegen üppiges, wenn sie ihm beigemischt waren — und zwar die Proben, die erst nach Sterilisation centrifugirt waren, kein so üppiges Wachstum wie die lebend centrifugirten. Auch wenn ich die *Prodigiosuskulturen* auf dem Agar, auf dem sie gewachsen, sterilisirte (bei 60°) und dann Influenza hinzupfte, erhielt ich kein Wachstum. Eine Erklärung für den Unterschied zwischen den Ergebnissen mit aufgestrichenen und beigemischten *Bakterienkulturen* vermag ich nicht zu geben.

Um die etwaige Wachstum fördernde Eigenschaft der im Nährboden enthaltenen Stoffwechselprodukte der

Bakterien zu untersuchen, verfuhr ich folgendermassen:

Ich wusch von Agarkulturen des *Prodigiosus* die Bakterien mit steriler Kochsalzlösung ab, sterilisirte den Boden bei 60° oder durch Umschmelzen und impfte Influenza darauf. Ich erhielt aber nie Wachstum derselben, auch nicht auf Böden von *Staphylococcus albus* und *aureus*, Diphtherie und *Violaceus*. In einer anderen Versuchsreihe benutzte ich 1 und 4 Tage alte Bouillonkulturen des *Prodigiosus*. Ich filtrirte die Bouillon teilweise ohne, teilweise nach Sterilisation bei 60° durch Berkefeldkerzen und mischte sie dann mit flüssigem, abgekühltem Agar wie sonst. Einen Teil der abfiltrirten Bouillon verwandte ich erst, nachdem ich sie 3 Stunden bei 60° hatte stehen lassen. Die Influenza wuchs nur auf der abfiltrirten Bouillon der 4 Tage alten Kultur, die vor dem Filtriren auf 60° erhitzt war, und zwar spärlich. Controlversuche mit der unfiltrirten sterilisirten Bouillonkultur ergaben kein Resultat auf der jungen, üppiges Wachstum auf der alten Kultur.

Durch diese Ergebnisse komme ich zu der Annahme, dass der das Influenzabacillenwachstum fördernde Stoff des *Prodigiosus* in den Bakterienleibern gebildet wird und erst nach ihrem Tode in die Umgebung diffundirt, wenigstens in geeigneter Menge. Hierdurch wird auch erklärt, dass bei lebender Mischkultur so selten Wachstum erfolgt.

Da vielleicht ein abnormer Eisengehalt der Bakterien das Wachstum begünstigen konnte, veraschte ich eine Aufschwemmung von 2 *Prodigiosus*kulturen, nahm mit Salzsäure auf und setzte Ferrocyankalium zu. Es erfolgte

deutlicher Niederschlag von Berliner Blau. Eine Controlprobe mit $\frac{1}{2}$ ccm Nähragar fiel aber stärker aus.

Ich prüfte auch, ob der rote Farbstoff des *Prodigiosus* einen Einfluss habe. Ich züchtete mir dazu auf Kartoffeln bei 22° einen roten und einen weissen Stamm. Die bei 60° sterilisirten Aufschwemmungen hiervon ergaben üppiges Wachstum ohne wesentlichen Unterschied.

Wegen der Möglichkeit, dass das Albumin der Bacterienleiber, wie Cantani annimmt, der fördernde Stoff sei, mischte ich reichliche sterilisirte Aufschwemmung von *Prodigiosus*, der auf Kartoffel und Agar gewachsen war, und sterilisirte Bouillonkultur mit Agar, das nur Wasser, 3% Agar und 0,6% Kochsalz enthielt, sodass der Boden stärker als sonst getrübt wurde, erhielt aber kein Wachstum von *Influenza* darauf.

Weitere Versuche über die Natur dieses das Wachstum des *Influenzabacillus* fördernden Stoffes anzustellen, ist mir leider zur Zeit nicht möglich. Am Schlusse meiner Arbeit drängt sich mir die Ansicht auf, dass die Akten über die Biologie des *Influenzabacillus*, speciell über die Förderung seines Wachstums durch fremde Keime, noch lange nicht geschlossen sind und dass wir ein klares Urtheil bei unserer mangelhaften Kenntniss von den Lebenserscheinungen der Bacterien überhaupt nicht so leicht erwarten dürfen.

An dieser Stelle sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. Pfeiffer, für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie die freundlichst erteilten Ratschläge bei Abfassung derselben meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Ferner danke ich den Herren Assistenten des Hygienischen Instituts, Herrn Dr. Symanski, Dr. Friedberger und Dr. Wolff für ihre lebenswürdige Unterstützung.

Litteraturverzeichnis.

1. M. Borchardt, Beobachtungen über das Vorkommen des Pfeifferschen Influenzabacillus. Berliner klin. Wochenschrift. 1894, No. 2.
2. A. Bruschetti, Ricerche bakteriologiche sull' influenza (Archivio per le scienze mediche 1892, 352) und andere Arbeiten. Referate in Baumgartens Jahresbericht VIII, 216.
3. G. Canestrini, Alcune notizie intorno al bazzillo dell' influenza (Atti del R. Istituto vereto di scienze ecc. 1892). Ref. in Baumgartens Jahresber. VIII, 205.
4. P. Canon, Ueber einen Mikroorganismus im Blut von Influenzkranken. Ueber Züchtung des Influenzabacillus aus dem Blute der Influenzkranken. Deutsche medicin. Wochenschrift 1892, 28 und 48.
5. P. Canon, Die Influenzabacillen im lebenden Blut. Virchows Archiv 1893, Heft 3.
6. A. Cantani jun., Zur Verwendung des Sperma als Nährbodensubstanz. Centralblatt f. Bakteriologie XXII, 601.
7. A. Cantani jun., Ueber das Wachstum des Influenzabacillus auf haemoglobinfreien Nährböden. Zeitschrift für Hygiene XXXVI, 29.
8. A. Cantani jun., Wirkung der Influenzabacillen auf das Centralnervensystem. Zeitschrift für Hygiene XXIII, 265.

9. A. Capaldi, Zur Verwendung des Eidotters als Nährbodensubstanz. Centralblatt f. Bakteriologie XX, 800.
10. Cornil et Chantemesse, Sur le microbe de l' influenza (Le Bulletin méd. 1892, 133). Refer. i. Centralblatt f. Bakteriologie 1892, 489.
11. Czaplewski, Ein Beitrag zur Züchtung des Influenzabacillus. Centralblatt f. Bakteriologie XXXII, 667.
12. Elmassian, Note sur un bacille des voies respiratoires. Annales de l' institut Pasteur 1899, 621.
13. E. Friedberger, Ueber ein neues zur Gruppe der Influenzabacillen gehöriges haemoglobiphiles Bakterium. Centralblatt f. Bakteriologie XXXIII, 6.
14. A. Ghon u. W. v. Preyss, Studien zur Biologie des Influenzabacillus. Centralblatt f. Bakteriologie XXXII, 90.
15. R. Grassberger, Zur Frage der Scheinfädenbildung in Influenzaskulturen. Centralblatt f. Bakteriologie XXIII, 353.
16. R. Grassberger, Beiträge zur Bakteriologie der Influenza. Zeitschrift f. Hygiene XXV, 453.
17. Th. Hitzig, Influenzabacillen bei Lungenabscess. Münch. med. Wochenschrift 1895, 813.
18. Huber, Ueber den Influenzabacillus. Zeitschrift f. Hygiene XV, 454.
19. L. Kamen, Beitrag zum klin.-bakt. Studium des Influenzabacillus. Wiener med. Wochenschrift 1896, No. 1, 2.
20. S. Kitasato, Ueber den Influenzabacillus und sein Kulturverfahren. Deutsche med. Wochenschrift 1892, 28.

21. Kirchner, Bakteriolog. Untersuchungen über Influenza. Zeitschr. f. Hygiene IX, 529.
22. W. Kruse, Zur Ätiologie und Diagnose der Influenza. Deutsche med. Wochenschrift 1894, 513.
23. L. Letzerich, der Bacillus der Influenza. Zeitschr. f. klin. Medicin XX, 73.
24. L. Letzerich, Untersuch. u. Beobacht. über die Aetiologie u. Pathologie der Influenza nebst therapeut. Bemerkungen. Zeitschr. f. klin. Medicin XXVII, 343.
25. H. Meunier, Satélitisme des colonies du bacille de Pfeiffer dans les cultures mixtes (Comptes rendus de la Soc. de Biol. 21). Ref. i. Baumgart. Jahresber. XIV, 319.
26. M. M. Nasstiukoff, Zur Aetiologie und klin. Bakteriologie der Influenza (Russisch) (Wratsch 1893 u. Doctordissertation). Ref. i. Centralbl. f. Bakt. XIX, 474 u. Baumgartens Jahresber. IX, 203.
27. R. Pfeiffer, Vorläufige Mitteilung über den Erreger der Influenza. Deutsche med. Wochenschrift 1892. 28.
28. R. Pfeiffer, Die Aetiologie der Influenza. Zeitschrift f. Hygiene 1893, 357.
29. R. Pfeiffer und Beck, Weitere Mitteilungen über den Erreger der Influenza. Deutsche med. Wochenschr. 1892, 465.
30. R. Pfeiffer u. Beck, Dr. Bruschetini und der Influenzabacillus. Deutsche med. Wochenschr. 1893, 816.
31. A. Pfuhl, Beitrag zur Aetiologie der Influenza. Centralbl. f. Bakteriologie 1892, 397.
32. A. Pfuhl, Bakteriologischer Befund bei schwerer Erkrankung des Centralnervensystems im Verlaufe

von Influenza. Berliner klin. Wochenschrift 1892, 979.

33. M. Richter, Zur Aetiologie der Influenza. Wien. klin. Wochenschr. 1894, 529.
 34. Rosenthal, Arbeit über Influenza in Société de biologie 1900, 17. III.
 35. O. Voges, Beobachtungen und Untersuchungen über Influenza und den Erreger dieser Erkrankung. Berliner klin. Wochenschr. 1894, 868.
 36. A. Weichselbaum, Beitrag zur Aetiologie u. patholog. Anatomie der Influenza. Wiener klin. Wochenschr. 1892. Ref. in Baumgartens Jahresher. VIII, 213.
 37. A. Wolff, Ueber einen beim Tier gefundenen influenzaähnlichen Bacillus Centralbl. f. Bacteriologie XXXIII, No. 6.
-

Lebenslauf.

Ich, Arthur Luerssen, evangelisch, geb. am 18. März 1877 zu Kleinzschocher bei Leipzig als der Sohn des Universitätsprofessors Dr. Christian Luerssen und seiner Frau Luise geb. Kellermann, genoss meine Schulbildung auf der Bürgerschule zu Leipzig, dem Gymnasium zu Eberswalde und schliesslich auf dem Kneiphöfischen Gymnasium zu Königsberg, das ich Ostern 1898 mit dem Zeugnis der Reife verliess. Ich studierte an der Königsberger Universität Medizin, bestand im Februar 1900 die ärztliche Vorprüfung und beendete im Februar 1903 die ärztliche Prüfung.

Während meiner Studienzeit hörte ich die Vorlesungen folgender Herren Professoren und Privatdocenten:

M. Askanazy, S. Askanazy, Berthold, Braatz, Braun, Bunge, Caspary, Cohn, v. Eiselsberg, Ellinger, Falkenheim, Garrè, Gerber, Hallervorden, Heisrath, Hermann, Hilbert, Jaffe, Kafemann, Kuhnt, Lange, Lichtheim, Lossen, Luerssen, Lühe, Meschede, Neumann, Pape, Pfeiffer, Prutz, Rosinski, Samter, Schreiber, Seydel, Stieda, Weiss, Winter, Zander.

Allen diesen meinen verehrten Lehrern sage ich an dieser Stelle meinen ergebenen Dank.

